

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2003 年 10 月 9 日 (09.10.2003)

PCT

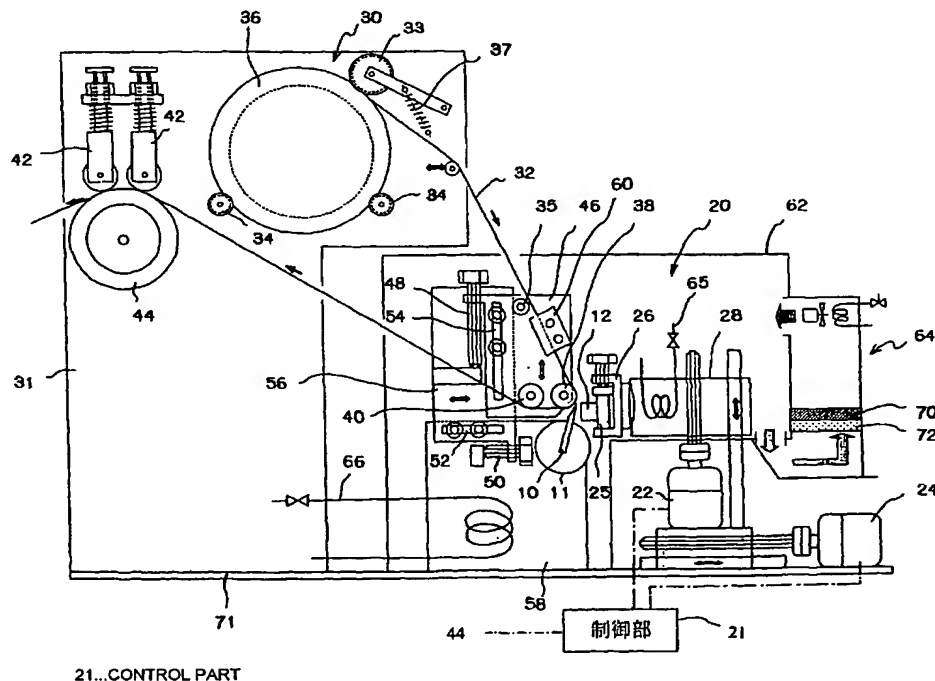
(10) 国際公開番号  
WO 03/083445 A1

- (51) 国際特許分類: G01N 1/06 (72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 宮澤 一夫 (MIYAZAWA, Kazuo) [JP/JP]; 〒387-0015 長野県 更埴市 大字鑄物師屋75-5 株式会社千代田製作所内 Nagano (JP). 黒岩 巖 (KUROIWA, Iwao) [JP/JP]; 〒387-0015 長野県 更埴市 大字鑄物師屋75-5 株式会社千代田製作所内 Nagano (JP). 荒川 雅彦 (ARAKAWA, Masahiko) [JP/JP]; 〒387-0015 長野県 更埴市 大字鑄物師屋75-5 株式会社千代田製作所内 Nagano (JP). 柳町 昭 (YANAGIMACHI, Akira) [JP/JP]; 〒387-0015 長野県 更埴市 大字鑄物師屋75-5 株式会社千代田製作所内 Nagano (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP03/03758
- (22) 国際出願日: 2003 年 3 月 26 日 (26.03.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2002-98830 2002 年 4 月 1 日 (01.04.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社千代田製作所 (KABUSHIKI KAISHA TIYODA SEISAKUSHO) [JP/JP]; 〒387-0015 長野県 更埴市 大字鑄物師屋75-5 Nagano (JP).
- (74) 代理人: 綿貫 隆夫 (WATANUKI, Takao); 〒380-0935 長野県 長野市 中御所 3 丁目 1 2 番 9 号 クリエイションビル Nagano (JP).

[続葉有]

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR MANUFACTURING TISSUE SECTION

(54) 発明の名称: 組織切片の作製方法及びその作製装置



21...CONTROL PART

(57) Abstract: A method of manufacturing a tissue section applicable to any organism specimen having forms fixed by freezing or by using embedding agent and capable of rapidly fitting the organism section to a film without pressing the film against the organism specimen, characterized by comprising the steps of, when the slicing of the organism specimen (12)

[続葉有]



(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

is started when the tissue section used for a sample for observation by a microscope is manufactured by slicing the organism specimen (12) having the form fixed by freezing or by using embedding agent along a slicing surface, adjusting a distance between the slicing surface of the organism specimen (12) and one side of a tape (32) and a temperature difference between the organism specimen (12) and the tape (32) so that the tip part of the tissue section (16) curled to the outside of the slicing surface of the organism specimen (12) is allowed to adhesively abut on one side of the tape (32) running apart from the slicing surface of the organism specimen (12), and after the tip part of the tissue section (16) is allowed to adhesively abut on one side of the tape (32), running the tape (32) at a speed in synchronism with the slicing speed of the tissue section (16) so that the entire tissue section (16) cut off from the organism specimen (12) can be adhered to one side of the tape (32).

(57) 要約: 凍結又は包埋剤によって形態が固定された生物試料 12 を薄切面に沿って薄切りし、顕微鏡観察用の標本に用いる組織切片を作製する際に、該生物試料 12 の薄切りを開始したとき、生物試料 12 の薄切面の外側にカーリングする組織切片 16 の先端部が、生物試料 12 の薄切面から離れて走行するテープ 32 の一面側に当接し付着するように、生物試料 12 の薄切面とテープ 32 の一面側との距離及び生物試料 12 とテープ 32 との温度差の各々を調整し、テープ 32 の一面側に組織切片 16 の先端部を当接し付着した後、生物試料 12 から切り離された組織切片 16 の全体をテープ 32 の一面側に付着するように、組織切片 16 の薄切速度と同調した速度でテープ 32 を走行することを特徴とする。

## 明 細 書

## 組織切片の作製方法及びその作製装置

## 技術分野

本発明は組織切片の作製方法及びその作製装置に関し、更に詳細には凍結又は包埋固定剤によって形態が固定された生物試料を薄切面に沿って薄切りし、顕微鏡観察用の標本等に用いる組織切片の作製方法及びその作製装置に関する。

## 背景技術

病理組織の観察には、生物試料を薄切りして得た組織切片をスライドガラスに張り付けた標本を顕微鏡観察することが行われている。

この様に、顕微鏡観察用の標本に用いる組織切片は、光が透過できる程度に薄く切断することを要する。このため、組織切片を切り出す生物試料は、凍結によって又はパラフィン等の包埋固定剤によって形態を固定し、薄切りし易くしている。

しかし、凍結によって又はパラフィン等の包埋固定剤によって形態を固定した生物試料でも、図5に示す如く、形態を固定した生物試料12が載置された台14を矢印方向に移動し、固定されたナイフ10で薄切りした組織切片16は、生物試料12の薄切面の外側（上方）にカーリングする。

カーリングした組織切片16を、平坦なスライドガラス上に載置すると、どうしても皺等が発生し、顕微鏡観察用の標本としては不適當なものとなる。

特に、凍結して形態を固定した生物試料12（以下、凍結生物試料12と称することがある）を薄切りして得た組織切片16は、パラフィン等の包埋固定剤によって形態を固定した生物試料12（以下、包埋固定剤固定の生物試料12と称することがある）を薄切りして得た組織切片16よりも、そのカーリングの程度が大きくなることがある。

また、凍結生物試料12から切り出された組織切片16は、病理学的迅速検査に用いられることが多く、パラフィン等の包埋固定剤によって形態を固定する時

間的余裕がないことが普通である。

このため、従来は、図 6 A に示す様に、凍結生物試料 1 2 が載置された台 1 4 を矢印方向に移動し、固定されたナイフ 1 0 で薄切りした組織切片 1 6 の先端部を、人手によって細筆 1 0 0 の先端に付着させた後、図 6 B に示す様に、組織切片 1 6 の先端部が付着した細筆 1 0 0 を薄切速度に合わせて移動することにより、カーリングが抑制された組織切片 1 6 を採取している。

しかし、図 6 A、図 6 B に示す操作を人手で行うためには、操作者は熟練を要し、組織切片 1 6 を切り出す凍結生物試料 1 2 は、同一試料を再度得られないことが多い。このため、組織切片 1 6 の切り出しに失敗は許されず、操作者は細心の注意力も要する。更に、操作者が、凍結生物試料 1 2 から感染するおそれもある。

しかも、凍結生物試料 1 2 から切り出された組織切片 1 6 の迅速検査に基づいて迅速に適切な診断を行うには、多くの経験を積んだ病理医を必要とするため、凍結生物試料 1 2 を用いた病理学的迅速検査を行うことのできる病院等は限定される。

尚、包埋固定剤固定の生物試料 1 2 についても、図 6 A、図 6 B に示す操作を人手で行うためには、操作者は熟練を要すること、組織切片 1 6 を切り出す包埋固定剤固定の生物試料 1 2 は、同一試料を再度得られないことが多く、組織切片 1 6 の切り出しに失敗は許されず、操作者は細心の注意力を要することは、凍結生物試料 1 2 の場合と同様である。

かかる従来の生物試料 1 2 からの組織切片の作製方法に対して、例えば特開平 4-177143 号公報、特開平 7-159298 号公報及び特開 2002-31586 号公報には、透明フィルムの粘着剤が塗布された塗布面を生物試料に貼付した後、透明フィルム直下の生物試料をナイフ等の刃で薄切りし、得られた組織切片を透明フィルムに付着して取り出す方法が提案されている。かかる透明フィルムを生物試料に貼付する際には、特開平 4-177143 号公報及び特開平 7-159298 号公報に提案された方法では、ローラ又はプランジャを用いて透明フィルムを生物試料に押し付けている。

また、特開平 6-323967 号公報では、生物試料を薄切りして得られた組

組織切片を水中に投下し、水面に浮いてくる組織切片を透明フィルムですくい上げる方法が提案されている。

前掲の特許公報に提案された方法によれば、図6 A、図6 Bに示す熟練を要する操作を人手で行うことなく透明フィルムの一面側に組織切片を付着できる。

しかしながら、透明フィルムの粘着剤が塗布された塗布面を生物試料に押し付けて貼付するため、粘着剤が生物試料に直接接触し、生物試料の押付面近傍の組織細胞が粘着剤に因る変質等の影響を受けるおそれがある。

更に、貼付された透明フィルムと生物試料との間に空気溜りが存在すると、生物試料から薄切りされた組織切片に皺等が発生し易く、透明フィルムを所定押圧力で生物試料に押し付けて透明フィルムと生物試料との間の空気を排出することが必要である。このため、透明フィルムが押し付けられた生物試料の押付面近傍の組織細胞が破壊されるおそれ、或いは生物試料の表面が透明フィルムによる圧縮・開放が繰り返されことによって、得られた組織切片の厚みが安定しないおそれがある。

しかも、同一生物試料から複数枚の組織切片を薄切りし、複数枚の顕微鏡観察用の標本作製する場合、生物試料から組織切片を薄切りする都度、生物試料との間の空気を完全に排出するように透明フィルムを生物試料に押し付けることを要する。更に、得た組織切片の固体識別が容易となるように、薄切りした順序で組織切片を透明フィルムの一面側に付着することも要する。

このため、透明フィルムの一面側に複数枚の組織切片を薄切りした順序で付着するまでの段階が、顕微鏡観察用の標本作製する際の律速段階となる。

また、生物試料を薄切りして得られた組織切片を水中に投下し、水面に浮いてくる組織切片を透明フィルムですくい上げる方法では、凍結生物試料を用いる場合には採用することができず、パラフィン等の疎水性の包埋固定剤で固定された包埋固定剤固定の生物試料を用いる場合に限定される。

しかも、パラフィン等の疎水性の包埋固定剤で固定された包埋固定剤固定の生物試料を用いる場合にも、水中に複数の組織切片を投入すると、各組織切片の固体識別が困難となるため、水中に投入した組織切片を透明フィルムですくい上げた後、次の組織切片を投入する。このため、組織切片の作製段階が、顕微鏡観察

用の標本を作製する際の律速段階となる。

そこで、本発明の課題は、凍結又は包埋固定剤によって形態が固定された生物試料のいずれにも適用でき、フィルムを生物試料に押し付けることなく組織切片をフィルムに迅速に付着できる組織切片の作製方法及びその作製装置を提供することにある。

#### 発明の開示

本発明者等は前記課題を達成すべく検討を重ねた結果、生物試料の薄切りを開始したとき、生物試料の薄切面の外側に組織切片の先端部がカーリングする。この組織切片の先端部を、生物試料から離れて走行する温度調整されたフィルムに当接させて付着し、組織切片の薄切速度に同調してフィルムを走行することによって、フィルムを生物試料に押し付けることなく組織切片をフィルムに迅速に付着できることを見出し、本発明に到達した。

すなわち、本発明は、凍結又は包埋固定剤によって形態が固定された生物試料を薄切面に沿って薄切りし、顕微鏡観察用の標本等に用いる組織切片を作製する際に、該生物試料の薄切りを開始したとき、前記生物試料の薄切面の外側にカーリングする組織切片の先端部が、前記生物試料の薄切面から離れて走行するフィルムの一面側に当接し付着するように、前記生物試料の薄切面と前記フィルムの一面側との距離及び前記生物試料とフィルムとの温度差の各々を調整し、前記フィルムの一面側に組織切片の先端部を当接し付着した後、前記生物試料から切り離された組織切片の全体をフィルムの一面側に付着するように、前記組織切片の薄切速度と同調した速度で前記フィルムを走行することを特徴とする組織切片の作製方法にある。

また、本発明は、凍結又は包埋固定剤によって形態が固定された生物試料を薄切面に沿って薄切りし、顕微鏡観察用の標本等に用いる組織切片を作製する組織切片の作製装置において、該生物試料を薄切面に沿って薄切りするナイフ等の薄切手段と、前記生物試料の薄切面から離れて走行するフィルムの走行手段とを具備し、前記薄切手段を用いて生物試料の薄切りを開始したとき、前記生物試料の薄切面の外側にカーリングする組織切片の先端部が当接するように、前記生物試

料の薄切面と前記フィルム的一面側との距離を調整する距離調整手段と、前記フィルム的一面側に当接した前記組織切片の先端部が付着するように、前記フィルムと生物試料との温度差を調整する温度差調整手段と、前記生物試料から切り離された組織切片の全体がフィルム的一面側に付着されるように、先端部が前記フィルム的一面側に張り付けられた組織切片の薄切速度と前記フィルムの走行速度とを同調する同調手段とが設けられていることを特徴とする組織切片の作製装置でもある。

かかる本発明において、生物試料とフィルムとの温度差を、前記フィルムの温度及び／又は生物試料の薄切り操作を行う雰囲気温度を調整することによって行うことにより、生物試料とフィルムとの温度差を容易に調整できる。特に、フィルムの温度を、生物試料の形態を固定する氷又は包埋固定剤の一部を溶融して組織切片を前記フィルムに付着し得る温度に調整することが好ましい。

この様に、フィルムの温度を調整する場合であっても、生物試料の薄切り操作を行う雰囲気温度を、前記生物試料の固定された形態が保持できるように温度調整することによって、生物試料の薄切り操作を安定して行うことができる。

また、生物試料の薄切面とフィルム的一面側との距離を、フィルムの走行路に設けた複数のローラのうち、前記生物試料の薄切面に最も近接して移動可能に設けた近接ローラを、前記生物試料の薄切面に対し移動して調整することによって容易に行うことができる。

この近接ローラの移動を、前記近接ローラの中心が、生物試料の薄切面の延長線に所定の角度で当接する切削具の研削面の延長線と生物試料の薄切面の延長線とが薄切開始点で交差して形成する交差角の二等分線上を移動するように制御することにより、近接ローラと切削具や生物試料の薄切面との干渉を避けることができる。

更に、フィルムの走行速度を、組織切片の薄切速度に対し、前記組織切片に皺や切断等が発生することのない速度、具体的にはフィルムの走行速度 ( $V_t$ ) と組織切片の薄切速度 ( $V_s$ ) との比 ( $V_t/V_s$ ) を 1.2 ~ 0.8 に調整することが好ましい。

尚、フィルムとして、透明フィルムを用いることにより、組織切片をフィルム

に張り付けた状態で顕微鏡観察用の標本等にすることができる。

本発明によれば、生物試料の薄切りを開始したとき、生物試料の薄切面の外側に組織切片の先端部がカーリングすることを利用し、生物試料から離れて走行するフィルムに組織切片の全体を付着できる。

つまり、生物試料の薄切りを開始したとき、生物試料の薄切面の外側にカーリングする組織切片の先端部が、生物試料から離れて走行するフィルムに当接する。この生物試料とフィルムとの温度差は、フィルムの一面側に当接した組織切片の先端部が付着されるように温度調整されている。

このため、フィルムの一面側に端部が付着した組織切片は、その組織切片の薄切速度に同調してフィルムを走行することによって、フィルムの一面側に組織切片の全体を付着できる。

この様に、生物試料から離れて走行するフィルムに組織切片の全体を迅速に付着できるため、フィルムが押し付けられた生物試料の押付面近傍の組織細胞がフィルムの押圧力に因り破壊されるおそれや組織切片の厚みが不安定となるおそれを解消できる。

更に、組織切片の付着を、フィルムと生物試料との温度差に基づいて行うため、フィルムの一面側に粘着剤等を塗布することを要せず、生物試料の押付面近傍の組織細胞が粘着剤に因る変質等の影響を受けるおそれも解消できる。

また、本発明によれば、生物試料から薄切りされた組織切片を直ちに走行するフィルムに付着するため、同一生物試料から複数枚の組織切片を薄切りする場合も、走行フィルムに薄切り順に組織切片を容易に付着でき、組織切片の固体識別も容易にできる

#### 図面の簡単な説明

図1は、本発明に係る組織切片の作製装置の一例を説明するための概略図であり、図2は、図1に示す作製装置の近接ローラ38と凍結生物試料12の薄切面との間隔Cを調整する調整方法を説明するための説明図であり、図3A～図3Eは、ナイフ10で所定厚さに薄切りした組織切片16が走行する透明フィルムから成るテープ32に付着する状態を説明する説明図であり、図4は、本発明に係



る組織切片の作製装置の他の例を説明するための概略図であり、図5は、凍結生物試料12から薄切りされた組織切片16が凍結生物試料12の薄切面の外側にカーリングする状態を説明する説明図であり、図6A及び図6Bは、従来の人手によるカーリングが抑制された組織切片16を採取する採取方法を説明する説明図である。

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明に係る組織切片の作製装置の一例を図1に示す。図1は、凍結生物試料から組織切片を作製する作製装置を説明する概略図である。

図1に示す組織切片の作製装置には、凍結された凍結生物試料12を薄切面に沿って薄切りする薄切手段20が設けられている。薄切手段20には、凍結生物試料12が固定された固着治具25を把持するクランプ26が設けられた試料把持部28と、試料把持部28を上下方向に駆動する駆動手段としてのサーボモータ22と、試料把持部28を左右方向に移動するサーボモータ24とが設けられている。更に、凍結生物試料12を薄切りする切削具としてのナイフ10が回転可能に設けられた筒体11に設けられており、筒体11によってナイフ10の凍結生物試料12の薄切面に対する角度を調整できる。

かかる固着治具25に固定された凍結生物試料12の薄切面から離れて走行する透明フィルムから成るテープ32（以下、単にテープ32と称することがある）の走行手段30が設けられている。この走行手段30は、基板71に立設された取付盤31と、取付盤31と別体に設けられた取付板46とに設けられている。

取付盤31には、テープ32が巻かれたテープ筒体36を支承するガイドローラ34、34と、テープ32を駆動ローラである引取ローラ44との間で把持し、加圧ローラ42、42、スプリング37によってテープ筒体36に所定力で当接するブレーキローラ33とが設けられている。このブレーキローラ33と引取ローラ44との間でテープ32に所定の張力を付与する。

更に、取付板46には、テープ筒体36から引き出されて走行するテープ32を案内するガイドローラ35、凍結生物試料12の薄切面に最も近接された近接ローラ38及びガイドローラ40が設けられている。

このガイドローラ40は、近接ローラ38へのテープ32の巻付角を調整するローラであり、ナイフ10によって凍結生物試料12を薄切りした組織切片がテープ12に付着し易くなる巻付角となるように、ガイドローラ40の位置を調整する。

かかる走行手段30によれば、駆動ローラである引取ローラ44によってテープ筒体36から所定の張力で引き出されたテープ32は、ガイドローラ35を通り、凍結生物試料12の薄切面に最も近接された近接ローラ38及びガイドローラ40を通過し、加圧ローラ42、42と引取ローラ44との間を通過して巻取ローラ（図示せず）に巻き取られる。

尚、近接ローラ38は、直径が2～40mmのローラを好適に用いることができる。

また、図1に示す作製装置には、走行手段30によって走行するテープ32と凍結生物試料12との距離を調整する距離調整手段が設けられている。この距離調整手段としては、左右方向に延びるスリット52に挿入された螺子によって基台58に取り付けられている板体56と、上下方向に延びるスリット54に挿入された螺子によって板体56に取り付けられている取付板46とが設けられている。

更に、取付板46の上下方向に延びるスリット54に挿入された螺子を緩めたとき、取付板46を上下方向に移動する螺子48と、板体56の左右方向に延びるスリット52に挿入された螺子を緩めたとき、取付板46のスリット54に挿入された螺子を締めて一体となった板体56及び取付板46を左右方向に移動する螺子50とが設けられている。

かかる距離調整手段を用い、ナイフ10で凍結生物試料12の薄切りを開始したとき、凍結生物試料12の薄切面の外側にカーリングする組織切片16の先端部が当接するように、凍結生物試料12の薄切面とテープ32との距離を調整する。

図1に示す組織切片の作製装置では、凍結生物試料12の薄切面に最も近接された近接ローラ38を移動し、近接ローラ38でガイドされるテープ32と凍結生物試料12の薄切面との距離を調整する。

この近接ローラ 38 の移動によって、図 2 に示す様に、凍結生物試料 12 の薄切面にナイフ 10 の先端が当接して薄切りを開始する薄切開始点 P と近接ローラ 38 との最短距離 C を調整する。

かかる最短距離 C を調整する際に、近接ローラ 38 とナイフ 10 や凍結生物試料 12 の薄切面との干渉を避けるべく、近接ローラ 38 を、近接ローラ 38 の中心 O が、凍結生物試料 12 の薄切面の延長線 R に角度  $\theta$  で当接するナイフ 10 の研削面の延長線 M と凍結生物試料 12 の薄切面の延長線 R とが薄切開始点 P で交差して形成する交差角  $\alpha$  の二等分線 N 上を移動することが好ましい。

尚、近接ローラ 38 でガイドされるテープ 32 と凍結生物試料 12 の薄切面との距離を調整する際に、近接ローラ 38 が装着されている取付板 46 に装着されているガイドローラ 40 も、近接ローラ 38 と共に移動する。

更に、図 1 に示す組織切片の作製装置では、テープ 32 の一面側に当接した組織切片 16 の先端部が付着するように、テープ 32 と生物試料 12 との温度差を調整する温度差調整手段が設けられている。

かかる温度調整手段としては、テープ 32 の走行路に設けられ、テープ 32 を所望温度に加熱する加熱装置 60 と、薄切手段 20、ナイフ 10 及び近接ローラ 38 等を外気から遮断する遮蔽箱 62 内の空気を循環し所望温度に保持する温度調整装置 64 と、薄切手段 20 及びナイフ 10 を冷却し、凍結生物試料 12 の形態が保持できるように、冷媒が供給される熱交換チューブ 65、66 とが設けられている。熱交換チューブ 65 は、凍結生物試料 12 が固定された固着治具 25 を把持するクランプ 26 が設けられた試料把持部 28 を冷却し、熱交換チューブ 66 は、ナイフ 10 及び筒体 11 の部分を冷却するものである。更に、温度調整装置 64 には、除菌フィルター 70 及びプレフィルタ 72 が設けられており、遮蔽箱 62 内を循環する空気の冷却及び除菌等を図っている。

この様な温度調整手段によれば、温度調整装置 64 及び熱交換チューブ 65、66 によって、凍結生物試料 12 の形態が保持できる温度に保持されている雰囲気下で、凍結生物試料 12 から組織切片 16 (図 5) を薄切りできる。凍結生物試料 12 から組織切片 16 を良好に薄切りできる温度条件としては、ナイフ 10 及び凍結生物試料 12 を  $-1 \sim -40^{\circ}\text{C}$  の温度に保持することが好ましい。

一方、テープ32は、近接ローラ38にガイドされる際に、当接する組織切片16を付着できる温度となるように、遮蔽箱62内に設けられた加熱装置60で加熱できる。加熱装置60のヒータとしては、公知のヒータ、例えば加熱ブロック、カートリッジヒータ、テープヒータ等を用いることができる。

この様に、温度調整されたテープ32に組織切片16の全体を、皺や切断等が発生することなく付着するには、組織切片16の先端が付着されたテープ32を、組織切片16の薄切速度に同調した速度で走行させることが必要である。

このため、図1に示す組織切片の作製装置には、組織切片16の薄切速度とテープ32の走行速度とを同調する同調手段として、引取ローラ44を駆動する駆動手段としてのサーボモータ（図示せず）と、試料把持部28を上下方向に移動し、ナイフ10で凍結生物試料12から組織切片16を薄切りするサーボモータ22とを、同期する制御部21が設けられている。

ここで言う「同調」とは、組織切片16の先端が付着されたテープ32を、組織切片16の薄切速度に対し、組織切片16に皺や切断等が発生することのない速度で走行させることを言う。このため、テープ32の走行速度（ $V_t$ ）と試料把持部28の移動速度（ $V_s$ ）との速度比（ $V_t/V_s$ ）が1.2～0.8の範囲内となるように、サーボモータ22を調整することが好ましい。

尚、図1に示す組織切片の作製装置に用いられているサーボモータに代えてリニアモータやステッピングモータを使用できる。

図1に示す組織切片の作製装置を用いて凍結生物試料12を用いて組織切片16を作製する際には、先ず、液体窒素やドライアイスアセトン液を用い、試料を直接又は氷晶粗大化防止剤やカルボキシメチルセルース（CMC）を混合した糊料液で包埋して凍結して凍結生物試料12を得る。この凍結生物試料12を固着治具25に固定するには、凍結生物試料12を氷晶粗大化防止剤を用いて固定する。この氷晶粗大化防止剤にカルボキシメチルセルースを混合してもよく、市販のOCTコンパウンドを用いることができる。

この様にして凍結生物試料12を固定した固着治具25を、試料把持部28のクランプ26に固着し、筒体11を回動してナイフ10の先端が凍結生物試料12の薄切面に当接する角度 $\theta$ （図2）を調整する。

次に、螺子 48, 50 によって、近接ローラ 38 を移動し、近接ローラ 38 と凍結生物試料 12 の図 2 に示す最短距離 C が、ナイフ 10 により凍結生物試料 12 の薄切りを開始したとき、薄切面の外側にカーリングする組織切片 16 の先端部が当接する距離となるように調整する。

この近接ローラ 38 の移動は、図 2 に示す様に、近接ローラ 38 の中心 O が、凍結生物試料 12 の薄切面 R に角度  $\theta$  で当接するナイフ 10 のテーパ面の延長線 M と凍結生物試料 12 の薄切面の延長線 R とが薄切開始点 P で交差して形成する交差角  $\alpha$  の二等分線 N 上を移動することにより、近接ローラ 38 とナイフ 10 や凍結生物試料 12 の薄切面との干渉を避けることができる。

更に、人手によって、テープ筒体 36 から引き出したテープ 32 を、ガイドローラ 35、加熱装置 60、近接ローラ 38、ガイドローラ 40、引取ローラ 44 及び巻取ローラ（図示せず）に巻き取られるように、各ローラ等に掛け渡す。

次いで、図 1 に示す組織切片の作製装置に電源を投入し、引取ローラ 44 を駆動してテープ 32 の走行を開始すると共に、走行するテープ 32 を、テープ筒体 36 と近接ローラ 38 との間で且つ遮蔽箱 62 内に位置する加熱装置 60 によって加熱し、近接ローラ 38 にガイドされるテープ 32 の温度を、凍結生物試料 12 の形態を固定する氷の一部を熔融して組織切片 16 をテープ 32 に付着し得る温度、具体的には  $0 \sim 40^{\circ}\text{C}$ （好ましくは  $10 \sim 30^{\circ}\text{C}$ ）に調整する。

同時に、凍結生物試料 12 の薄切り雰囲気をも  $-1 \sim -40^{\circ}\text{C}$  の温度に維持すべく、温度調整装置 64 によって遮蔽箱 62 内の全体を冷却すると共に、凍結生物試料 12 を冷却する熱交換チューブ 65 及びナイフ 10 を冷却する熱交換チューブ 66 に冷媒を供給する。

更に、サーボモータ 24 を駆動し、凍結生物試料 12 が固定された固着治具 25 を把持するクランプ 26 が設けられた試料把持部 28 を左右方向に所定距離移動し、凍結生物試料 12 から薄切りされる組織切片 16 の厚さを決定する。このサーボモータ 24 による試料把持部 28 の左右方向への移動距離は、予めサーボモータ 24 の駆動を制御する制御部 21 に設定されている。

その後、サーボモータ 22 を駆動し、試料把持部 28 を上下方向に移動し、ナイフ 10 によって凍結生物試料 12 から組織切片 16 を薄切りする。このサーボ

モータ 22 は、テープ 32 に付着した組織切片 16 に皺等が発生しないように、組織切片 16 の薄切速度とテープ 32 の走行速度とを同調すべく、引取ローラ 44 を駆動するサーボモータ（図示せず）と制御部 21 により同期されている。

この様に、凍結生物試料 12 をナイフ 10 で所定厚さに薄切りした組織切片 16 を、走行するテープ 32 に付着する状態を図 3 A～図 3 E に示す。

但し、図 3 A～図 3 E においては、図 1 では上下方向に移動していた凍結生物試料 12 の固着治具 25 を、左右方向の移動に変えて示す。

先ず、固定されたナイフ 10 の先端に固着治具 25 を矢印 A 方向に移動し、凍結生物試料 12 をナイフ 10 の先端方向に移動する [図 3 A]。この際、テープ 32 は、固着治具 25 の移動方向に走行を開始している。

更に、固着治具 25 を矢印 A 方向に移動し、凍結生物試料 12 にナイフ 10 の先端を食い込ませて組織切片 16 の薄切りを開始する [図 3 B]。

この薄切りされた組織切片 16 は、ナイフ 10 の先端の傾斜面によって凍結生物試料 12 の薄切面の外側に持ち上げられ、その先端部が近接ローラ 38 でガイドされているテープ 32 に当接する [図 3 C]。テープ 32 は、近接ローラ 38 を通過する際の温度が、凍結生物試料 12 の形態を固定する氷の一部を溶融して組織切片 16 をテープ 32 に付着し得る温度、具体的には 0～40℃（好ましくは 10～30℃）となるように、図 1 に示す加熱装置 60 によって調整されているため、テープ 32 に当接した組織切片 16 の先端部は、テープ 32 に付着する。

テープ 32 に先端部が当接し付着した組織切片 16 は、先端部がテープ 32 と共に矢印方向に移動しつつ、固着治具 25 の矢印 A 方向への移動に伴って凍結生物試料 12 から薄切りされる。

この際に、テープ 32 を引き取る引取ローラ 44 を駆動するサーボモータ（図示せず）と固着治具 25 を矢印 A 方向に移動するサーボモータ 22 は制御部 21 により同期され、組織切片 16 の薄切速度とテープ 32 の走行速度とは同調されている。このため、薄切りされた組織切片 16 のうち、テープ 32 に付着した部分はテープ 32 と共に移動しつつ、連続して薄切りされた部分がテープ 32 に当接し付着する [図 3 D]。このため、皺等の発生を防止しつつ、組織切片 16 をテープ 32 に付着できる。

その後、凍結生物試料 1 2 からの組織切片 1 6 の薄切りが終了すると、テープ 3 2 に全体が付着された組織切片 1 6 を得ることができ、固着治具 2 5 を矢印 A 方向と逆方向に移動し、図 3 A の状態に戻る [図 3 E]。この際に、ナイフ 1 0 の先端が凍結生物試料 1 2 の薄切面に接触しないように、ナイフ 1 0 の先端と凍結生物試料 1 2 の薄切面との間に隙間を形成する。

尚、図 3 A の状態に戻り、次の薄切り操作に入る場合には、サーボモータ 2 4 を駆動し、凍結生物試料 1 2 を所定距離移動して凍結生物試料 1 2 から薄切りされる組織切片 1 6 の厚さを決定する。

図 3 A ~ 図 3 E の動作を繰り返すことによって、テープ 3 2 の一面側に複数の組織切片 1 6 を薄切り順に付着できる。

かかる組織切片 1 6 が付着されたテープ 3 2 は、引取ローラ 4 4 に引き取られた後、巻取ローラ（図示せず）に巻き取られる。

巻取ローラに巻き取られたテープ 3 2 に付着された組織切片 1 6 には、長尺のテープ 3 2 に付着された状態、或いはテープ 3 2 を組織切片 1 6 毎に切断した状態で染色等が施され顕微鏡観察用の標本に作製される。

図 1 に示す装置によれば、凍結生物試料 1 2 を連続して薄切りされた複数の組織切片 1 6 を非熟練者でも得ることができ、複数の顕微鏡観察用やその他の光学分析用の標本を容易に形成できる。このため、凍結生物試料 1 2 から組織切片 1 6 を、皺等を防止しつつ薄切りできる熟練者が不存在の病院等でも、凍結生物試料 1 2 を用いた病理学的迅速検査を行うことができる。

更に、凍結生物試料 1 2 から組織切片 1 6 を人手によらず且つ外界から遮断されて所定温度に冷却された空気が循環する遮蔽箱 6 2 内で薄切りできるため、操作者が、凍結生物試料 1 2 から感染するおそれも解消できる。

また、テープ 3 2 を凍結生物試料 1 2 に押し付けることなく組織切片 1 6 をテープ 3 2 に迅速に付着できる。このため、前掲の特許公報で提案された装置の如く、テープ 3 2 に付着された組織切片 1 6 の付着面近傍の組織細胞がテープ 3 2 の押付力で破壊されたり、組織切片 1 6 の厚さが不揃いとなることを防止でき、組織切片 1 6 をテープ 3 2 に付着する段階が、顕微鏡観察用の標本を作製する際の律速段階となることも防止できる。

図 1 に示す作製装置の図 3 A～図 3 E の動作において、図 3 A～図 3 C までの動作における組織切片 1 6 の薄切速度を、図 3 D の動作における組織切片 1 6 の薄切速度に比較して遅くするようにサーボモータ 2 2 を制御することが好ましい。かかるサーボモータ 2 2 の制御によって、凍結生物試料 1 2 の薄切面から外側にカーリングする組織切片 1 6 のカーリング度を調整可能である。この場合も、組織切片 1 6 の薄切速度に同調するようにテープ 3 2 の走行速度を調整すべく、引取ローラ 4 4 を駆動するサーボモータを制御することが好ましい。

また、図 1 に示す装置では、組織切片 1 6 が付着されたテープ 3 2 を一旦巻取ローラに巻き取っているが、一旦巻き取ることなく連続してテープ 3 2 に付着した組織切片 1 6 に染色等を施してもよい。

その後、テープ 3 2 に付着されて染色等が施された組織切片 1 6 を、テープ 3 2 から剥離することなくスライドガラス等の支持体に貼着し、組織切片 1 6 の保護又は保存を図ってもよく、或いは顕微鏡観察用としてもよい。

更に、図 1 に示す装置では、ナイフ 1 0 及び凍結生物試料 1 2 を  $-1 \sim -40^{\circ}\text{C}$  の温度に保持すべく、ナイフ 1 0 及び凍結生物試料 1 2 を個別に冷却できるようにしてもよい。この冷却には、ナイフ 1 0 を装着する筒体 1 1 及び凍結生物試料 1 2 を固着する固着治具 2 5 の各々に、冷媒が供給される冷却用パイプ或いはペルチェ素子を設置することによって可能である。この様に、ナイフ 1 0 及び凍結生物試料 1 2 を、その設置されている雰囲気温度とは個別に所定温度に冷却を行うことができる場合には、図 1 に示す熱交換チューブ 6 5、6 6 及び温度調整装置 6 4 による遮蔽箱 6 2 内の温度調整を不要にし得る。

図 1 に示す装置は、凍結生物試料 1 2 から組織切片 1 6 を作製する装置として用いられているが、融点が室温以上のパラフィン等の包埋固定剤によって形態を固定した包埋固定剤固定の生物試料 1 2 を薄切りして組織切片 1 6 を作製する装置としても使用できる。

つまり、融点が室温以上のパラフィン等の包埋固定剤によって形態を固定した包埋固定剤固定の生物試料 1 2 を薄切りして組織切片 1 6 を、図 1 に示す装置で作製する場合には、生物試料 1 2 を薄切りする雰囲気を冷却することを要しない。このため、遮蔽箱 6 2 内の空気を冷却する温度調整装置 6 4 を停止すると共に、



熱交換チューブ 6 5, 6 6 への冷媒の供給を停止することによって、包埋固定剤固定の生物試料 1 2 を薄切りして組織切片 1 6 を作製できる。

かかる装置では、テープ 3 2 に当接した組織切片 1 6 の先端部が付着するように、テープ 3 2 と生物試料 1 2 との温度差を調整する温度差調整手段としては、遮蔽箱 6 2 内に設けられた加熱装置 6 0 が用いられる。

この加熱装置 6 0 により、近接ローラ 3 8 を通過する際の温度が、包埋固定剤固定の生物試料 1 2 の形態を固定する包埋固定剤の一部を熔融して組織切片 1 6 をテープ 3 2 に付着し得る温度、具体的には、包埋固定剤として汎用されている融点 6 0℃ のパラフィンを用いた場合、6 5～7 0℃ となるように、テープ 3 2 を加熱する。

尚、遮蔽箱 6 2 内に加熱装置 6 0 が設けられているため、遮蔽箱 6 2 内の温度が所定温度以上に昇温される場合には、温度調整装置 6 4 を駆動して遮蔽箱 6 2 内の温度を 1 0～2 5℃ に保持してもよい。

また、融点が室温以上のパラフィン等の包埋固定剤によって形態を固定した包埋固定剤固定の生物試料 1 2 を薄切りして組織切片 1 6 を作製する専用の装置としては、図 4 に示す装置を用いることができる。

図 4 に示す装置では、図 1 に示す遮蔽箱 6 2 内の空気を循環し所望温度に保持する温度調整装置 6 4 及び冷媒が供給される熱交換チューブ 6 5, 6 6 の設置を省略している。

このため、テープ 3 2 に当接した組織切片 1 6 の先端部が付着するように、テープ 3 2 と生物試料 1 2 との温度差を調整する温度差調整手段としては、遮蔽箱 6 2 内に設けられた加熱装置 6 0 が用いられる。

この加熱装置 6 0 により、近接ローラ 3 8 を通過する際の温度が、包埋固定剤固定の生物試料 1 2 の形態を固定する包埋固定剤の一部を熔融して組織切片 1 6 をテープ 3 2 に付着し得る温度、具体的には、包埋固定剤として汎用されている融点 6 0℃ のパラフィンを用いた場合、6 5～7 0℃ となるように、テープ 3 2 を加熱する。

この様に、遮蔽箱 6 2 内に加熱装置 6 0 が設けられているため、遮蔽箱 6 2 内の温度が所定温度以上に昇温される場合には、遮蔽箱 6 2 内の温度を所定温度に

保持すべく、遮蔽箱 6 2 内を換気する換気装置を設けてもよく、遮蔽箱 6 2 を撤去可能としてもよい。

尚、図 4 に示す装置の構成部材として、図 1 に示す装置の構成部材と同一部材を用いることができるものについては、図 1 に示す構成部材と同一番号を付して詳細な説明を省略した。

図 1 ～図 4 に示すテープ 3 2 としては、テープ 3 2 をカバーガラスとして使用するため、透明フィルムから成るテープを用いたが、テープ 3 2 をカバーガラスとして使用しない場合、例えばテープ 3 2 に付着した組織切片 1 6 をスライドガラス上に転写する場合には、不透明フィルムから成るテープであってもよい。

また、図 1 に示す装置では、遮蔽箱 6 2 内に設けられた加熱装置 6 0 によってテープ 3 2 を加熱しているが、遮蔽箱 6 2 外の温度が高く、近接ローラ 3 8 を走行するテープ 3 2 の温度を、テープ 3 2 に当接した組織切片 1 6 が付着する温度に維持できれば加熱装置 6 0 によるテープ 3 2 の加熱を省略してもよい。

更に、図 3 E の状態から図 3 A の状態に移行する間もテープ 3 2 を走行すると、テープ 3 2 が無駄になるため、図 3 E の状態から図 3 A の状態に移行する間は、テープ 3 2 の走行を停止するように引取ローラ 4 4 を駆動するサーボモータを制御することが好ましい。

尚、図 1 及び図 4 に示す装置に用いることができる生物試料としては、医学分野が対象とする動物から採取した試料のみならず、農学分野等が対象とする植物から採取した試料であっても用いることができる。

## 実施例

本発明を実施例によって更に詳細に説明する。

### 実施例 1

図 1 に示す装置を用い、豚肺臓、豚肝臓又は豚筋肉から切り出した試料を凍結した凍結生物試料 1 2 から組織切片 1 6 を得る。

ここで、図 1 に示す装置に用いるテープ 3 2 としては、セルロースアセテートから成る透明フィルムで形成された幅 2.4 mm のテープ 3 2 を使用し、凍結生物

試料 1 2 としては、豚肺臓、豚肝臓又は豚筋肉から切り出した試料を、氷晶粗大防止糊材としてのカルボキシメチルセルロースに埋め込んで凍結して得た凍結生物試料 1 2 を用いた。

この凍結生物試料 1 2 は、カルボキシメチルセルロースを塗布した固着治具 2 5 の面に載置し凍結して固着した後、凍結生物試料 1 2 を固定した固着治具 2 5 を、試料把持部 2 8 のクランプ 2 6 に固着した。試料把持部 2 8 に固定した凍結生物試料 1 2 の薄切面に、ナイフ 1 0 の先端が当接する角度  $\theta$  (図 2) を 22.5 度になるようにナイフ 1 0 を装着した筒体 1 1 を回動して調整する。

この様に、凍結生物試料 1 2 及びナイフ 1 0 を固着又は装着した部分を冷却すべく、熱交換チューブ 6 5, 6 6 に冷媒を供給し、ナイフ 1 0 の温度を  $-16 \sim -20^{\circ}\text{C}$  に保持すると共に、試料把持部 2 8 の温度を  $-21 \sim -25^{\circ}\text{C}$  に保持した。更に、遮蔽箱 6 2 内の空気を循環する温度調整装置 6 4 を駆動し、遮蔽箱 6 2 内を  $-15 \sim -25^{\circ}\text{C}$  に保持した。

また、図 1 に示す直径 10 mm の近接ローラ 3 8 を、取付板 4 6 及び板体 5 6 に設けられた螺子 4 8, 5 0 によって、近接ローラ 3 8 と凍結生物試料 1 2 との図 2 に示す最短距離 C (図 2) を 0.4 mm に調整した。

次いで、テープ筒体 3 6 から引き出したテープ 3 2 を、ガイドローラ 3 5、加熱装置 6 0、近接ローラ 3 8、ガイドローラ 4 0、引取ローラ 4 4 及び巻取ローラ (図示せず) に巻き取られるように、各ローラ等に掛け渡した後、サーボモータ 2 4 を駆動し、凍結生物試料 1 2 が固定された固着治具 2 5 を把持するクランプ 2 6 が設けられた試料把持部 2 8 を左右方向に所定距離移動し、凍結生物試料 1 2 から薄切りされる組織切片 1 6 の厚さを  $5 \mu\text{m}$  に設定し、引取ローラ 4 4 を駆動してテープ 3 2 の走行を開始した。走行するテープ 3 2 は、近接ローラ 3 8 にガイドされるテープ 3 2 の温度が  $0 \sim 20^{\circ}\text{C}$  となるように、遮蔽箱 6 2 内に位置する加熱装置 6 0 によって加熱される。

その後、サーボモータ 2 2 を駆動し、試料把持部 2 8 を上下方向に移動し、ナイフ 1 0 によって凍結生物試料 1 2 から厚さ  $5 \mu\text{m}$  の組織切片 1 6 を薄切りする。このサーボモータ 2 2 は、テープ 3 2 に付着した組織切片 1 6 に皺等が発生しないように、組織切片 1 6 の薄切速度とテープ 3 2 の走行速度とを同調すべく、引

取ローラ 44 を駆動するサーボモータと同期されている。

かかる厚さ  $5\text{ }\mu\text{m}$  の組織切片 16 の薄切りを、15 回／分の速度で行った。この際、テープ 32 の走行速度 ( $V_t$ ) と試料把持部 28 の移動速度 ( $V_s$ ) との速度比 ( $V_t/V_s$ ) を 0.9 に調整した。その結果、皺等のない良好な複数枚の組織切片 16 がテープ 32 の長手方向に間隔を置いて付着していた。

#### 実施例 2

実施例 1 において、厚さ  $5\text{ }\mu\text{m}$  の組織切片 16 の薄切りを、60 回／分の速度で行い、テープ 32 の走行速度 ( $V_t$ ) と試料把持部 28 の移動速度 ( $V_s$ ) との速度比 ( $V_t/V_s$ ) を 0.9 に調整した他は、実施例 1 と同様にして薄切り操作を行った。テープ 32 に付着した組織切片 16 は、やや前縁部に潰れている個所が存在するものの、顕微鏡観察可能な標本であった。

#### 実施例 3

実施例 1 において、近接ローラ 38 と凍結生物試料 12 との図 2 に示す最短距離 C (図 2) を 2 mm に調整した他は、実施例 1 と同様にして薄切り操作を行った。テープ 32 に付着した複数の組織切片 16 には、やや斑が存在するものの、合格レベルであった。

#### 実施例 4

図 4 に示す装置を用い、豚肺臓、豚肝臓又は豚筋肉から切り出した試料をホルマリンで固定した後、エタノールによる脱水及びキシレンによる透徹を施し、最終的に融点  $60^\circ\text{C}$  のパラフィンで包埋した生物試料 12 から組織切片 16 を得る。

ここで、図 4 に示す装置に用いるテープ 32 としては、セルロースアセテートから成る透明フィルムで形成された幅 24 mm のテープ 32 を使用し、融点  $60^\circ\text{C}$  のパラフィンで包埋した生物試料 12 を固着治具 25 に固着した後、固着治具 25 を試料把持部 28 のクランプ 26 に固着した。試料把持部 28 に固定した生物試料 12 の薄切面に、ナイフ 10 の先端が当接する角度  $\theta$  (図 2) を  $22.5^\circ$  になるようにナイフ 10 を装着した筒体 11 を回動して調整する。

また、図4に示す直径10mmの近接ローラ38を、取付板46及び板体56に設けられた螺子48、50によって、近接ローラ38と生物試料12との図2に示す最短距離C（図2）を0.4mmに調整した。

次いで、テープ筒体36から引き出したテープ32を、ガイドローラ35、加熱装置60、近接ローラ38、ガイドローラ40、引取ローラ44及び巻取ローラ（図示せず）に巻き取られるように、各ローラ等に掛け渡した後、サーボモータ24を駆動し、生物試料12が固定された固着治具25を把持するクランプ26が設けられた試料把持部28を左右方向に所定距離移動し、生物試料12から薄切りされる組織切片16の厚さを5 $\mu$ mに設定し、引取ローラ44を駆動してテープ32の走行を開始した。走行するテープ32は、近接ローラ38にガイドされるテープ32の温度が65～70℃となるように、遮蔽箱62内に位置する加熱装置60によって加熱する。

その後、サーボモータ22を駆動し、試料把持部28を上下方向に移動し、ナイフ10によって生物試料12から厚さ5 $\mu$ mの組織切片16を薄切りする。このサーボモータ22は、テープ32に付着した組織切片16に皺等が発生しないように、組織切片16の薄切速度とテープ32の走行速度とを同調すべく、引取ローラ44を駆動するサーボモータと同期されている。

かかる厚さ5 $\mu$ mの組織切片16の薄切りを、15回／分の速度で行った。この際、テープ32の走行速度（ $V_t$ ）と試料把持部28の移動速度（ $V_s$ ）との速度比（ $V_t/V_s$ ）を0.9に調整した。その結果、皺等のない良好な複数枚の組織切片16がテープ32の長手方向に間隔を置いて付着していた。

尚、遮蔽箱62内の温度を15～25℃に維持されるように、遮蔽箱62内を換気した。

#### 発明の効果

本発明によれば、熟練者でなくとも生物試料から良好な組織切片を容易に且つ安全に作製できる。このため、顕微鏡観察用の標本を容易に作製できる結果、熟練者が不存在の病院や検査機関等でも病理学的検査を行うことができ、患者に適切な治療を施すことができる。

また、病理学的検査を行うことのできる病理専門医が不存在の離島や僻地の病院等でも、作製した標本の顕微鏡画像をインターネット等によって病理専門医に送り、病理専門医の判断に基づいて患者に適切な治療を施すことができる。

更に、形態学的標本作製に不慣れな分野、例えばライフサイエンス分野の研究者等でも種々の観察目的の達成し得る標本を容易に作製できる。

## 請 求 の 範 囲

1. 凍結又は包埋固定剤によって形態が固定された生物試料を薄切面に沿って薄切りし、顕微鏡観察用の標本等に用いる組織切片を作製する際に、

該生物試料の薄切りを開始したとき、前記生物試料の薄切面の外側にカーリングする組織切片の先端部が、前記生物試料の薄切面から離れて走行するフィルム的一面側に当接し付着するように、前記生物試料の薄切面と前記フィルム的一面側との距離及び前記生物試料とフィルムとの温度差の各々を調整し、

前記フィルム的一面側に組織切片の先端部を当接し付着した後、前記生物試料から切り離された組織切片の全体をフィルム的一面側に付着するように、前記組織切片の薄切速度と同調した速度で前記フィルムを走行することを特徴とする組織切片の作製方法。

2. 生物試料とフィルムとの温度差を、前記フィルムの温度及び／又は生物試料の薄切り操作を行う雰囲気温度を調整することによって行う請求項 1 記載の組織切片の作製方法。

3. フィルムの温度を、生物試料の形態を固定する氷又は包埋固定剤の一部を溶解して組織切片を前記フィルムに付着し得る温度に調整する請求項 1 記載の組織切片の作製方法。

4. 生物試料の薄切り操作を行う雰囲気温度を、前記生物試料の固定された形態が保持できるように温度調整する請求項 1 記載の組織切片の作製方法。

5. 生物試料の薄切面とフィルム的一面側との距離を、フィルムの走行路に設けた複数個のローラのうち、前記生物試料の薄切面に最も近接して移動可能に設けた近接ローラを、前記生物試料の薄切面に対し移動して調節する請求項 1 記載の組織切片の作製方法。

6. 近接ローラの移動を、前記近接ローラの中心が、生物試料の薄切面の延長線に所定の角度で当接する切削具の研削面の延長線と生物試料の薄切面の延長線とが薄切開始点で交差して形成する交差角の二等分線上を移動するように制御する請求項 5 記載の組織切片の作製方法。

7. フィルムの走行速度を、組織切片の薄切速度に対し、前記組織切片に皺や切

断等が発生することのない速度で走行する請求項 1 記載の組織切片の作製方法。

8. フィルムの走行速度 ( $V_t$ ) と組織切片の薄切速度 ( $V_s$ ) との比 ( $V_t/V_s$ ) を、1.2 ～ 0.8 に調整する請求項 1 記載の組織切片の作製方法。

9. フィルムとして、透明フィルムを用いる請求項 1 記載の組織切片の作製方法。

10. 凍結又は包埋固定剤によって形態が固定された生物試料を薄切面に沿って薄切りし、顕微鏡観察用の標本等に用いる組織切片を作製する組織切片の作製装置において、

該生物試料を薄切面に沿って薄切りするナイフ等の薄切手段と、前記生物試料の薄切面から離れて走行するフィルムの走行手段とを具備し、

前記薄切手段を用いて生物試料の薄切りを開始したとき、前記生物試料の薄切面の外側にカーリングする組織切片の先端部が当接するように、前記生物試料の薄切面と前記フィルムの一面側との距離を調整する距離調整手段と、

前記フィルムの一面側に当接した前記組織切片の先端部が付着するように、前記フィルムと生物試料との温度差を調整する温度差調整手段と、

前記生物試料から切り離された組織切片の全体がフィルムの一面側に付着されるように、先端部が前記フィルムの一面側に張り付けられた組織切片の薄切速度と前記フィルムの走行速度とを同調する同調手段とが設けられていることを特徴とする組織切片の作製装置。

11. 温度差調整手段が、フィルムの温度及び／又は生物試料の薄切り操作を行う雰囲気温度を調整する温度差調整手段である請求項 10 記載の組織切片の作製装置。

12. フィルムの走行路に、前記フィルムの温度を、生物試料を固定する氷又は包埋固定剤の一部が溶融して組織切片を前記フィルムに付着し得る温度に調整するフィルム温度調整手段が設けられている請求項 10 記載の組織切片の作製装置。

13. 生物試料を薄切する雰囲気を、前記生物試料の固定された形態が保持できるように温度調整する温度調整手段が設けられている請求項 10 記載の組織切片の作製装置。

14. 距離調整手段には、フィルムの走行路に設けられた複数個のローラのうち、生物試料の薄切面に最も近接して配設され且つ前記生物試料の薄切面に対して移



動可能に設けられた近接ローラを具備する請求項 10 記載の組織切片の作製装置。

15. 近接ローラが、前記近接ローラの中心が、生物試料の薄切面の延長線に所定の角度で当接する切削具の研削面の延長線と生物試料の薄切面の延長線とが薄切開始点で交差して形成する交差角の二等分線上を移動するように設けられている請求項 14 記載の組織切片の作製装置。

16. 同調手段には、フィルムの走行速度及び組織切片の薄切速度を、前記組織切片に皺や切断等が発生することのないように、前記フィルムを走行する駆動手段と組織切片を薄切する駆動手段とを制御する制御部が設けられている請求項 10 記載の組織切片の作製装置。

17. 制御部が、フィルムの走行速度 ( $V_t$ ) と組織切片の薄切速度 ( $V_s$ ) との比 ( $V_t/V_s$ ) が 1.2 ~ 0.8 となるように、前記フィルムを走行する駆動手段と組織切片を薄切する駆動手段とを制御する制御部である請求項 16 記載の組織切片の作製装置。

18. フィルムが、透明フィルムである請求項 10 記載の組織切片の作製装置。

図 1

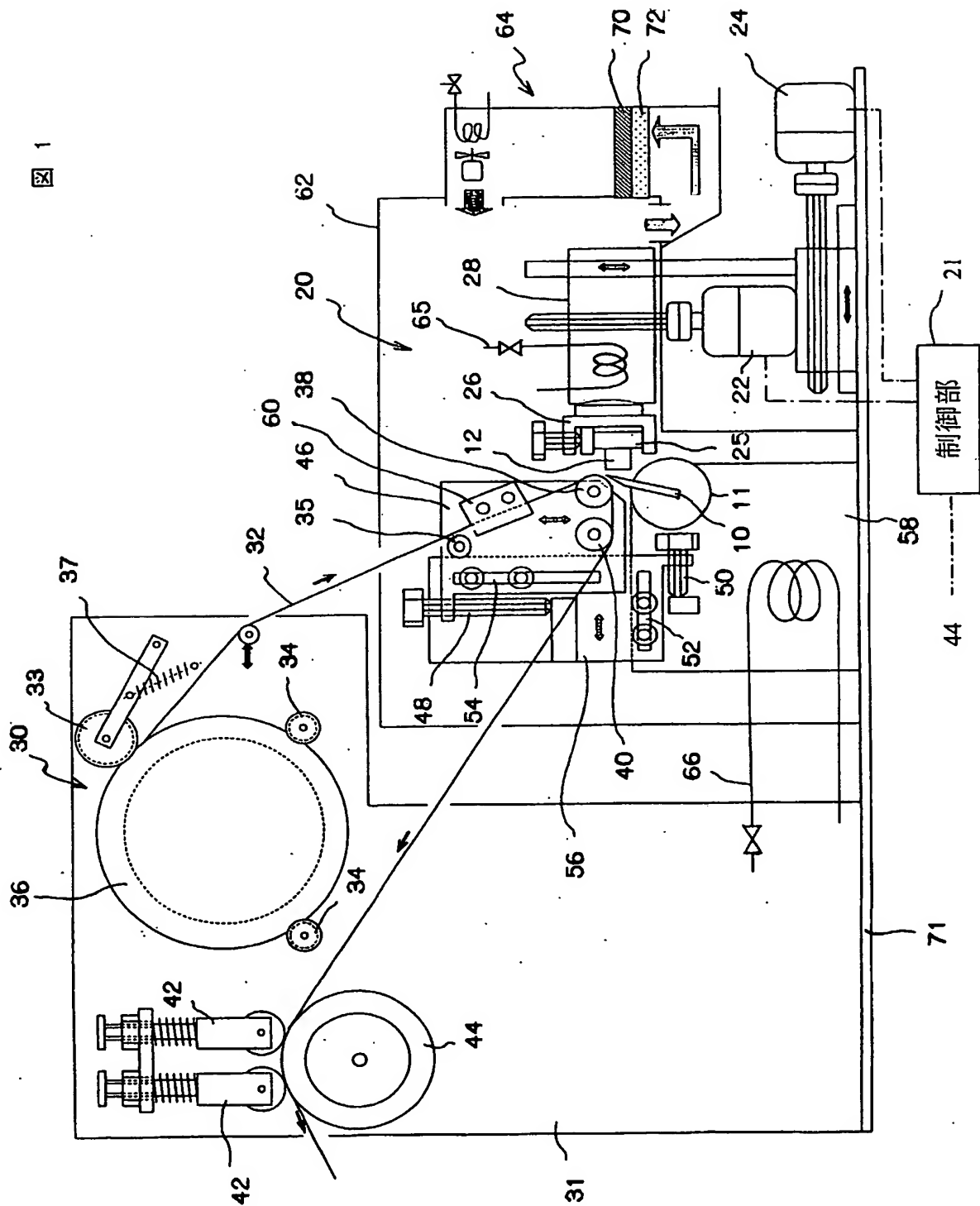


図 2

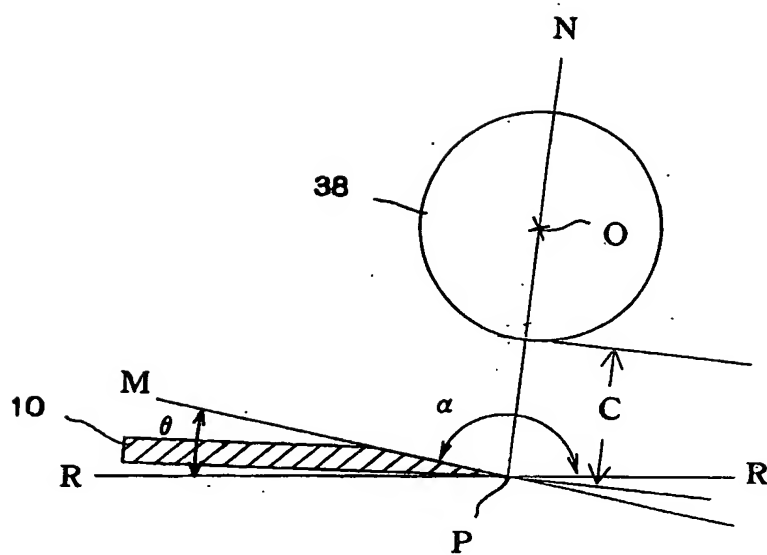


図 3 A

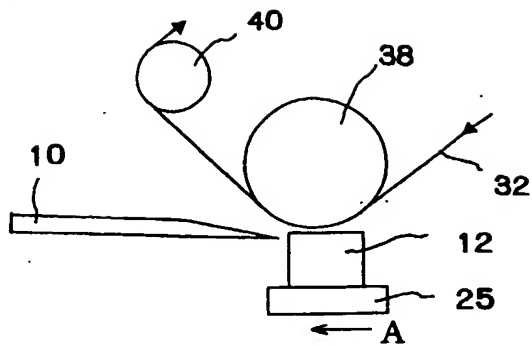


図 3 B

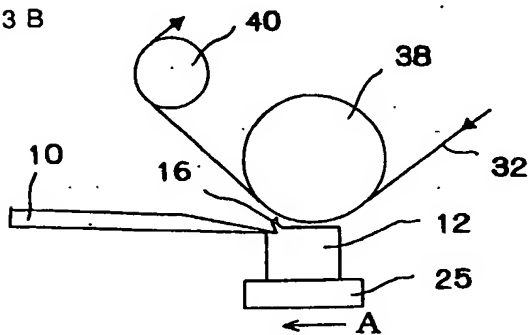


図 3 C

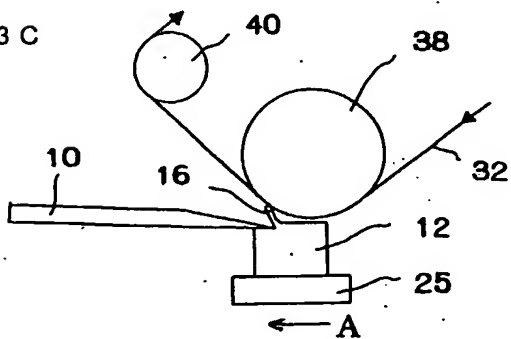


図 3 D

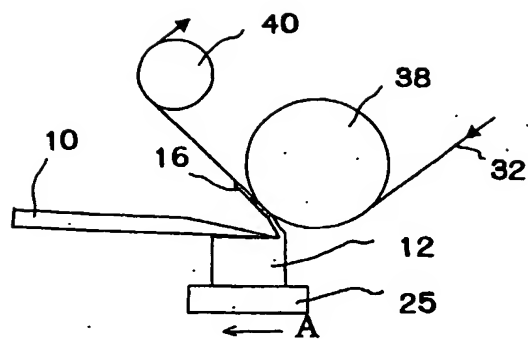
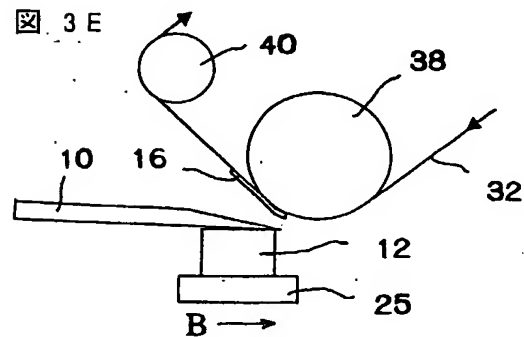
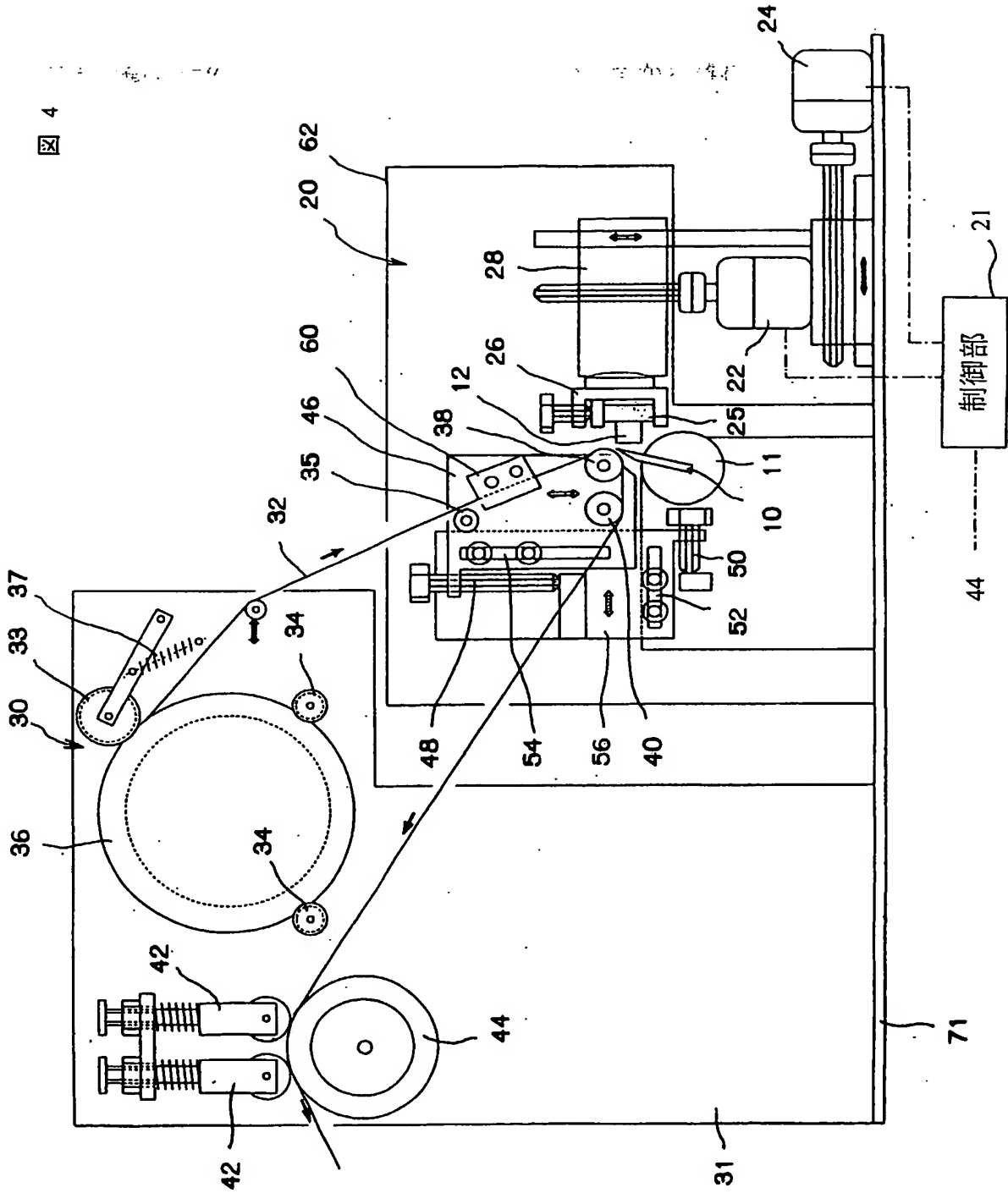


図 3 E





5 / 5

図 5

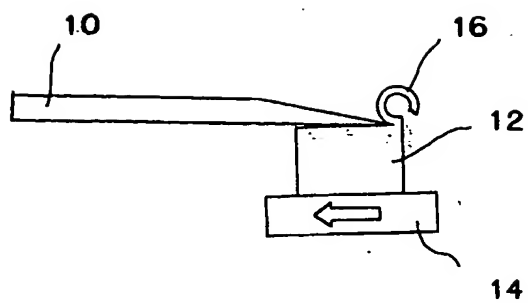


図 6 A

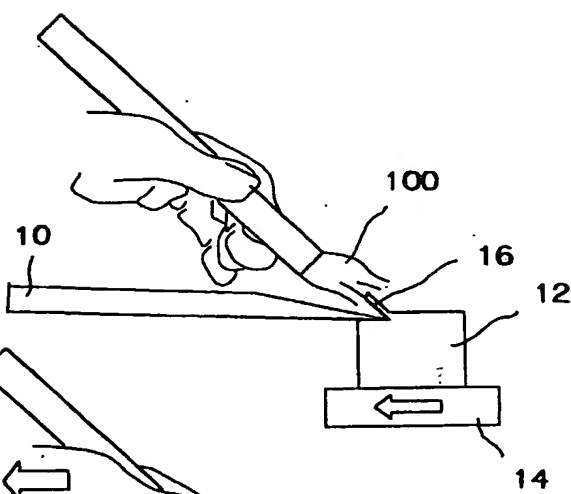
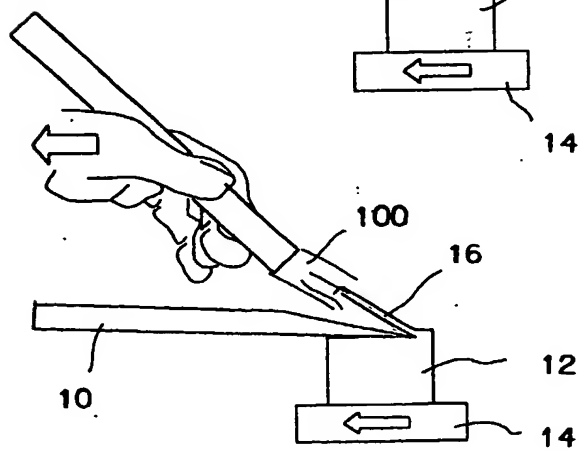


図 6 B



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/03758

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>7</sup> G01N1/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>7</sup> G01N1/00-1/44

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2003	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
JICST FILE (JOIS)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 9-304246 A (The Kanagawa Academy of Science), 28 November, 1997 (28.11.97), Full text; Figs. 1 to 7 (Family: none)	1, 2, 4, 5, 7-11, 13, 14, 16-18 3, 6, 12, 15
Y	JP 9-101242 A (The Kanagawa Academy of Science), 15 April, 1997 (15.04.97), Par. No. [0020] (Family: none)	1, 2, 4, 5, 7-11, 13, 14, 16-18
Y A	JP 2000-346764 A (Toshiba Machine Co., Ltd.), 15 December, 2000 (15.12.00), Full text; Figs. 1 to 5 (Family: none)	1, 2, 4, 5, 7-11, 13, 14, 16-18 3, 6, 12, 15

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
01 July, 2003 (01.07.03)

Date of mailing of the international search report  
22 July, 2003 (22.07.03)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/03758

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5960640 A (MICROM Laborgerate GmbH.), 05 October, 1999 (05.10.99), Full text; Figs. 1 to 3 & JP 10-111219 A Full text; Figs. 1 to 3 & EP 833142 A	4, 13
Y A	JP 7-159298 A (The Kanagawa Academy of Science), 23 June, 1995 (23.06.95), Full text; Figs. 1 to 9 (Family: none)	9, 18 1-8, 10-17
A	JP 2002-22626 A (Toshiba Machine Co., Ltd.), 23 January, 2002 (23.01.02), Full text; Figs. 1 to 7 (Family: none)	3, 12
P, A	JP 2003-4604 A (Toshiba Machine Co., Ltd.), 08 January, 2003 (08.01.03), Full text; Figs. 1 to 5 (Family: none)	8, 17
A	EP 88549 A (TECHNICON INSTRUMENTS CORP.), 14 September, 1983 (14.09.83), Full text; Figs. 1 to 4 & JP 58-158534 A Full text; Figs. 1 to 4	1-18



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. G01N1/06

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. G01N1/00-1/44

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2003年
日本国登録実用新案公報	1994-2003年
日本国実用新案登録公報	1996-2003年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICSTファイル (JOIS)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 9-304246 A (財団法人神奈川科学技術アカデミー) 1997. 11. 28, 全文, 第1-7図, (ファミリーなし)	1, 2, 4, 5, 7-11, 13, 14, 16-18 3, 6, 12, 15
A		

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

01.07.03

国際調査報告の発送日

22.07.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

遠藤 孝徳

2J

2909

電話番号 03-3581-1101 内線 3250

C (続き): 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名、及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 9-101242 A (財団法人神奈川科学技術アカデミー) 1997. 04. 15, 段落番号【0020】, (ファミリーなし)	1, 2, 4, 5, 7-11, 13, 14, 16-18
Y	JP 2000-346764 A (東芝機械株式会社) 2000. 12. 15 全文, 第1-5図, (ファミリーなし)	1, 2, 4, 5, 7-11, 13, 14, 16-18
A		3, 6, 12, 15
Y	US 5960640 A (MICROM Laborgerate GmbH) 1999. 10. 05, 全文, 第1-3図 & JP 10-111219 A, 全文, 第1-3図 & EP 833142 A	4, 13
Y	JP 7-159298 A (財団法人神奈川科学技術アカデミー)	9, 18
A	1995. 06. 23, 全文, 第1-9図, (ファミリーなし)	1-8, 10-17
A	JP 2002-22626 A (東芝機械株式会社) 2002. 01. 23 全文, 第1-7図, (ファミリーなし)	3, 12
P, A	JP 2003-4604 A (東芝機械株式会社) 2003. 01. 08 全文, 第1-5図, (ファミリーなし)	8, 17
A	EP 88549 A (TECHNICON INSTRUMENTS CORPORATION) 1983. 09. 14, 全文, 第1-4図 & JP 58-158534 A, 全文, 第1-4図	1-18